

## PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 11-263733

(43)Date of publication of application : 28.09.1999

(51)Int.Cl.

A61K 38/00  
A23K 1/16  
A23L 1/30  
A23L 1/305  
A61K 31/73  
A61K 31/73  
A61K 31/73

(21)Application number : 10-066928

(71)Applicant : HANKYU KYOEI BUSSAN INC

(22)Date of filing : 17.03.1998

(72)Inventor : KAGAWA KYOICHI  
MATSUTAKA TOSHIKO  
BAN YASUCHIKA  
FUKUHAMA CHIZUKO  
FUJINO HIROAKI

## (54) LIPID METABOLISM IMPROVER

## (57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain a safe and readily ingestible lipid metabolism improver, food and drink, and feed.

SOLUTION: This improver contains a mixture of a protein hydrolyzate prepared by hydrolyzing a protein or a protein-containing material by a protease or an acid, and having 3-4 average peptide chain length and activities for improving lipid metabolism, and a chitosan as active ingredients. The weight ratio of the protein hydrolyzate to the chitosan formulated therewith is preferably (4:1)-(2:3).

## LEGAL STATUS

[Date of request for examination] 19.11.1998

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number] 3108675

[Date of registration] 08.09.2000

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C)

\* NOTICES \*

JPO and NCIPi are not responsible for any damages caused by the use of this translation.

1. This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.
2. \*\*\*\* shows the word which can not be translated.
3. In the drawings, any words are not translated.

---

CLAIMS

---

[Claim(s)]

[Claim 1] The lipid metabolism improvement agent which hydrolyzes protein or a protein inclusion from a protease or an acid, is manufactured, and is characterized by containing the protein hydrolyzate in which average peptide chain length has the lipid metabolism improvement operation which are 3-4, and chitosan as an active principle.

[Claim 2] The lipid metabolism improvement agent according to claim 1 whose combination weight ratios of said protein hydrolyzate and chitosan are 4:1-2:3.

[Claim 3] The lipid metabolism improvement agent according to claim 1 whose combination weight ratio of said protein hydrolyzate and chitosan is 3:2.

[Claim 4] A lipid metabolism improvement agent given in any 1 term of claims 1-3 which are diet lipid absorption inhibitors.

[Claim 5] A lipid metabolism improvement agent given in any 1 term of claims 1-3 which are after-a-meal hyperlipidemia improvement agents.

[Claim 6] A lipid metabolism improvement agent given in any 1 term of claims 1-3 which are prevention / improvement agents of hyperlipidemia, arteriosclerosis, hypertension, and obesity.

[Claim 7] The eating-and-drinking article which contains the lipid metabolism improvement agent of a publication in any 1 term of claims 1-3.

[Claim 8] Feed for animals which contains the lipid metabolism improvement agent of a publication in any 1 term of claims 1-3.

---

[Translation done.]

\* NOTICES \*

JPO and NCIPi are not responsible for any damages caused by the use of this translation.

1. This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.
2. \*\*\*\* shows the word which can not be translated.
3. In the drawings, any words are not translated.

---

## DETAILED DESCRIPTION

---

### [Detailed Description of the Invention]

[0001]

[Field of the Invention] This invention relates to the lipid metabolism improvement agent which has diet lipid absorption inhibition and an after-a-meal hyperlipidemia improvement operation and which can expect prevention and improvement effects, such as hyperlipidemia, arteriosclerosis, and obesity.

[0002]

[Description of the Prior Art] In recent years, the intake of a lipid is increasing with improvement thru/or Western-style-izing of eating habits. According to the national nutrition survey, in Showa 63 and afterwards, the lipid energy ratio occupied to intake energy is over the upper limit (25%) of a proper ratio, and the increment is being enhanced. Focusing on a young generation, the increment in the intake ratio of animal fat is remarkable especially. Superfluous intake of such a constant fat causes obesity and lifting of serum lipid, and serves as a social problem from on healthy maintenance of people -- the level of significance of the onset of various complication (for example, a circulatory system disease, especially adult diseases, such as a gun of a certain kind, such as a crown, cerebrovascular disease and a breast cancer, and a large intestine gun) accompanying it increases -- and improvement.

[0003] As a factor which lifting of blood cholesterol level concentration is mentioned from the former as a risk factor of the circulatory system disease onset, and especially became independent of cholesterol recently further the triglyceride concentration in blood is also regarded as questionable (Austin and M.A.Am.J.Epidem.129,249-259 (1989) --) Carlson L.A.et al.Acta.Med.Scand.206,351-360 (1979), Carlson L.A.et al.Acta.Med.Scand.218,207-211 (1985), Castelli, W.P.Am.Heart.J.112,432-437 (1986).

[0004] If a fat and sugar are taken in, hyperlipidemia after a meal will happen transient, but if it takes in superfluously, an after-a-meal hyperlipidemia condition will continue for a long time. Although hyperlipidemia includes lifting of serum cholesterol concentration, and lifting of blood serum triglyceride concentration, it is known well that hypercholesterolemia is the risk factor of arteriosclerosis. Moreover, in the situation of taking in a fat superfluously constantly, continuous lifting of the triglyceride concentration in blood is caused, and it is pointed out that lifting of the triglyceride concentration in blood has the high danger of leading to hypertension and the onset of arteriosclerosis nature diseases, such as ischemic heart disease, (Nakamura Haruo, \*\*\*\*\* 157,771-775 (1991) of medicine, a hypertriglyceridemia handbook, Ishikawa Toshitsugu, the medicinal information 39, 3-8 (1988)).

[0005] Moreover, the hyperenergia by superfluous intake of a lipid causes obesity, and obesity raises the rate of the onset of adult diseases, such as circulatory failure, arteriosclerosis, and diabetes mellitus.

[0006] For this reason, body fat clearance or approach aiming at deterioration of a diet lipid is performed energetically, and the following approaches and a drug are proposed. First, there are alimentary therapy, a fat substitute, and an anorexing agent as control of fat intake. However, alimentary therapy is too much diet food in many cases, and is accompanied by difficulty with the delicious food extraordinary for performing in the long run in abundant modern society which was rich in the lipid. Moreover, although various goods are developed as a fat substitute, it is not easy for it to be also satisfied with the time of

the gourmet who pursues the skill of natural delicacy and a genuine article with the taste of a substitute. Furthermore, by the thing with a fat substitute, that a critical side effect is discovered attracts attention recently. Moreover, as an anorexing agent, although mazindol, a FEN full lamin, etc. are known, a medicine can be prescribed for the patient only under control of a medical practitioner, but the side effect is also reported (Hadler A.J. J.Clin.Pharm.12,453 (1972) and Stunkar D.A.et al.Lanset 1,503 (1973)).

[0007] Although the drugs (nicomol, neomycin, etc.) which do not add a limit to intake of a fat etc. but suppress absorption of the lipid in an alimentary canal as approach replaced with an approach with these difficult activation [ like ], and the drugs (dehydroepiandrosterone etc.) for preventing that the absorbed nutriment is accumulated as a fat are also developed, in these drugs, the manifestation of a side effect is unescapable.

[0008] In addition, although clofibrate, BURABASUTACHIN, etc. which are the dextran sulfate which is the drugs to which the lipoprotein lipase activity in blood is raised, and the metabolic turnover of the lipid in blood is urged, and lipid metabolism improvement medicine are used now, we are anxious also about the side effect by administration of these drugs.

[0009] In the therapy of hypercholesterolemia, although drugs which suppress the biosynthesis of cholesterol are known, many of these drugs are accompanied by the side effect.

[0010] Then, development of the food raw material considered that there are few manifestations of a side effect is expected to the above-mentioned drugs. Various dietary fibers interfere in absorption of the cholesterol within an alimentary canal, or bile acid, and reducing blood cholesterol level concentration is known for the food raw material. As an effective dietary fiber, pectin, guar gum, konjak mannan, seaweed polysaccharide, chitosan, etc. are mentioned.

[0011] It became clear by the animal experiment that chitosan is exceptionally excellent in lipid digestion inhibitory action in recent years as compared with other dietary fibers. For example, when chitosan is added and bred about 5% in the feed of a rat, it is reported that control of the apparent rate of fat absorption reaches also to about 50% (the Kaneuchi \*\*, chemistry, and living thing 34,553-557 (1996)). However, if this intake is converted into Homo sapiens per fat intake, it will be set also to 15g as daily dose, and possibility that side effects -- it is constipated according to strong cohesive force -- will appear is pointed out as a result of that abundant intake. In many cases, the maximum intake is set as 2g or less on chitosan the 1st.

[0012] Furthermore, while chitosan controls absorption of the fat in an alimentary canal, it may have an adverse effect on absorption of fat soluble vitamin. The report that vitamin A in the living body and E blood drug concentration decrease by chitosan intake is actually made (the Kaneuchi \*\*, above). Since there is effectiveness which prevents arteriosclerosis in vitamin E, such vitamin absorption inhibitory action is considered to be the trouble of a proper by chitosan.

[0013] Many trial results [ in / in a cholesterol lowering operation of chitosan / not only / an animal but Homo sapiens ] are reported. it is well-known (Sugano, M.et al.Nutr.Rep.Int., 18, and 531-537 (1978) -- ) Crossing Keisuke, food stuff industry 36, 50-56 (1993), Hirano Shigehiro, Food & Food Ingredients Journal of Japan 159, 65-71 (1994), Tsugita Takashi et al., monthly hood chemical 45-50 (1995), Kaneuchi \*\*, the above. However, although chitosan decreases blood cholesterol level concentration intentionally to Homo sapiens, the report that there is no significant depressor effect about the triglyceride value in blood is also made (crossing Keisuke, the above, Tsugita et al., above).

[0014] As mentioned above, although it is the food raw material which was excellent as a serum cholesterol concentration lifting inhibitor considered that chitosan is based on the absorption inhibitory action in an alimentary canal, there are troubles, such as a side effect by abundant intake.

[0015] On the other hand, it is shown clearly that "the protein hydrolyzate with which protein or a protein inclusion is hydrolyzed from a protease or an acid, it is manufactured, and average peptide chain length has the lipid metabolism improvement operation which are 3-4" called Following BOREP has the operation which controls notably lifting of the blood serum triglyceride concentration by fat intake (JP,5-87052,B (WO 89/06970, USs 08/608,045)).

[0016] Absorption inhibition of the lipid in the alimentary canal by suppressing the activity of pancreatic

lipase as an operation of BOREP, The excitometabolism of the triglyceride in the chylomicron by activation of lipoprotein lipase, Control of the variation from a fat precursor cell and a fat precursor cell to [ from beta oxidation acceleration of the fatty acid in liver, and fibrocyte ] a fat cell, \*\* is checked and to reduce the triglyceride concentration in blood is considered by two or more devices referred to as promoting not only the absorption inhibition by the alimentary canal but the metabolic turnover of a lipid by which digestion was once carried out.

[0017] Moreover, the side effect (the side effect by superfluous intake, fat soluble vitamin absorption inhibition) that the above-mentioned chitosan sees is not seen by BOREP. However, BOREP has the trouble that blood cholesterol level lifting depressant action as chitosan is not shown.

[0018]

[Problem(s) to be Solved by the Invention] By improving the metabolic turnover of the once absorbed lipid, this invention solves the above troubles and aims at offering the lipid metabolism improvement agent which has the preventive effect and improvement effects of a lifestyle-related disease, such as hyperlipidemia and arteriosclerosis, in an obesity list with strong constant superfluous intake of a fat and causal relation while it checks the digestion of a lipid.

[0019]

[Means for Solving the Problem] In view of a situation which was described above, this invention persons hydrolyze protein or a protein inclusion from a protease or an acid, and are manufactured. When average peptide chain length is mixed for the first time and uses actually the protein hydrolyzate (BOREP is called) which has the lipid metabolism improvement operation which are 3-4, and chitosan To the compounding agent, it sets at the triglyceride concentration lifting depressant action in blood, and blood cholesterol level concentration lifting depressant action. Also unexpectedly, the synergistic effect was further compensated with the header and the trouble of seeing at the time of single administration of each component, in the dose etc., and this invention was completed for the exceptional remarkable effectiveness which was not seen being demonstrated based on a header and these at the time of single administration of each component. By using especially the mixture concerned, the intake of chitosan is substantially reducible.

[0020] That is, the lipid metabolism improvement agent by this invention is characterized by containing the mixture of BOREP and chitosan as an active principle.

[0021] BOREP used by this invention is indicated by JP,5-87052,B (international disclosure number WO 89/06970), the international disclosure number WO 97/00890, etc., and can be manufactured according to the approach of applying to disclosure of these official reports at the approach of a publication, or it. Moreover, the chitosan used by this invention is well-known in itself, for example, is indicated by the volume for chitin chitosan seminars "the last biomass chitin and chitosan 1988 annual publication" at the detail. This invention can also choose and use a suitable thing from a commercial thing.

[0022] Although the combination weight ratio of BOREP and chitosan can be set up freely, as shown in the below-mentioned example, they are 4:1-2:3 preferably and are about 3:2 still more preferably. The high synergistic effect is acquired in this combination weight ratio.

[0023] The lipid metabolism improvement agent by this invention shows diet lipid absorption inhibitory action and the lipid metabolism improvement operation considered to be based on an after-a-meal hyperlipidemia improvement operation to animals (an example, Homo sapiens, a rabbit, mouse, etc.), and is useful as a prevention / improvement agent of hyperlipidemia (hypertriglyceridemia, hypercholesterolemia), arteriosclerosis hypertension (atherosclerosis, cerebral arteriosclerosis, a coronary arteriosclerotic disease, peripheral arteriosclerosis, etc.), and obesity. Said improvement agent by this invention takes and divides effectiveness remarkable in the prevention or the improvement of a disease which makes hypertension, such as obesity and hyperlipidemia, complication, and is preferably used for prevention and an improvement of the arteriosclerosis which makes hypertension complication.

[0024] The lipid metabolism improvement agent by this invention can be mixed with the preparation (mixture of a BOREP Hara object and a chitosan Hara object) of itself or proper support, an excipient, a diluent, etc., and insurance can be medicated with it in taking orally as solid constituents, such as a

capsule, a tablet, powder, and granulation. These constituents can be pharmaceutical-preparation-ized according to the well-known approach of generally using for a pharmaceutical preparation chemically-modified degree.

[0025] The one-day dose of each component can combine effectively BOREP of the range of about 450-900mg, and the chitosan of the range of about 300-600mg. Though natural, these dosage range can be adjusted with the unit base required in order to divide a dose for one day. 8 lock (BOREP600mg, chitosan 400mg) administration of the tablet which is indicated in the following examples will be carried out most preferably six to 12 lock on the 1st on the 1st.

[0026] The lipid metabolism improvement agent by this invention is not only offered as above pharmaceutical preparation, but is offered as a gestalt which made an eating-and-drinking article and the feed for animals contain it. As food, health food, a food for specified health use, and common food (chocolate, a cake, a hum, meat sauce, a stew, milk, a pudding, Calais, HAYASHI, etc.) are mentioned. It is desirable to prescribe a medicine for the patient in the range in which the lipid metabolism improvement agent by this invention is mixed at 0.1 - 50% of a rate for such food, and said improvement agent becomes 750mg - 1200mg per day. In the feed for animals, it is desirable to make said improvement agent contain in 0.05% - 5% of range. The feed for animals which blended the lipid metabolism improvement agent by this invention is useful to an improvement of the texture of the animal in a zootechnics and a fishery field by preventing the high fatty change of an animal.

[0027]

[Embodiment of the Invention] The process of BOREP which is one component of this invention is a Patent Publication. The example is as follows although indicated by common [ 5-87052 ]. it distributes so that it may become 5 - 30 % of the weight at water by making the protein or the protein inclusions of arbitration, such as animality, a vegetable property, and the microorganism origin, into solid content -- making -- an acid or alkali -- the optimal pH of a protease -- adjusting -- a protease -- once -- or it adds on a target serially, and at the temperature of 20-70 degrees C, a protease is made to react and it hydrolyzes for 3 to 48 hours.

[0028] Next, the solid of BOREP which is the protein hydrolyzate which carries out spray drying of the obtained proteolysis object, or has a lipid metabolism improvement effect for extending agents, such as a carboxymethyl cellulose or a dextrin, optimum dose, in addition by drying and solidifying in the proteolysis object concerned can be obtained.

[0029] Although the protein of arbitration can be used as mentioned above as a raw material of BOREP, globin protein, such as hemoglobin and a myoglobin, is desirable especially in the point that the effectiveness of controlling lifting of the triglyceride concentration in blood can be strongly done so, like a publication for the international disclosure number WO 97/00890.

[0030] In addition, especially the class of animal which is the supply source of such globin protein is not limited, but can use widely blood, such as a cow, Buta, a sheep, Homo sapiens, and a horse.

[0031] Moreover, as hydrolase to be used, a kind of acid protease, a neutral protease, or alkaline protease or two sorts or more can be used, for example.

[0032] It is checked that several sorts of oligopeptides are checked, for example, Val-Val-Tyr-Pro all excels [ number / WO 97/00890 / especially / international application ] in Leu-Val-Val-Tyr-Pro-Trp-Thr, Val-Thr-Leu, and three sorts of peptides of Val-Tyr-Pro in the triglyceride concentration lifting depressant action in blood also in the constituent of BOREP again as an active principle of such BOREP obtained by hydrolysis at WO 97/35875.

[0033] The chitosan which is another component of this invention is the well-known matter, as mentioned above, for example, it is indicated by the volume for chitin chitosan seminars "the last biomass chitin and chitosan 1988 annual publication" at the detail. This invention can also choose and use a suitable thing from a commercial thing.

[0034]

[Example] Example 1: Depressor effect over serum lipid concentration lifting (experiment using a mouse)

[0035] It was used at random, having divided the ICR male mouse (6-7 weeks old, about 33g) which

carried out preliminary breeding and which was conditioned with the pellet (CE-2 and Japanese Clare, Inc.) into six groups (mixture (2 rate of compounding ratio of BOREP and chitosan 4:1, 3:1, 3: 2:3) administration group of BOREP and chitosan called this invention article a BOREP administration group, a chitosan administration group, and the following). 250mg of cholesterol 5% addition olive oil and the above-mentioned administration object were administered orally to each group after the overnight fast, and blood serum triglyceride concentration and serum cholesterol concentration were measured with enzymatic process 2 hours after administration. Measurement was performed according to the protocol directed to the kit using the Wako Pure Chem "triglyceride E-test" and the "cholesterol E-test."

[0036] From a measurement concentration value, the result (measured value in a table) of having asked for the rate of 50% control of the serum lipid concentration lifting depressant action in each administration object (ID50 mg/mouse) is shown in the following table 1 and a table 2. BOREP [ in / in the ratio (B:C) in a table / this invention article ]: The rate of a compounding ratio of chitosan is shown. ID50 (inside of a table (b)) of this invention article is a theoretical value supposing the additive effect which adds what applied each rate of a compounding ratio to ID50 BOREP and chitosan independent measured value, and is obtained. The percentage of the measured value to the calculated value of this invention article shows the synergistic effect. The synergistic effect by the combination of two components means a large thing, so that this value is small.

[0037]

[A table 1]

脂肪負荷後の血清トリグリセリド上昇抑制に対する  
BOREPとキトサンの組み合わせ効果

	比率 (B:C)	ID50 (mg/mouse)		相乗効果 (a) / (b) (%)
		測定値 (a)	計算値 (b)	
BOREP		40.3		
キトサン		23.8		
本発明品	4:1	31.8	37.0	86
	3:1	30.0	36.2	83
	3:2	23.7	33.7	70
	2:3	26.6	30.4	88

[0038]

[A table 2]

脂肪負荷後の血清コレステロール上昇抑制に対する  
BOREPとキトサンの組み合わせ効果

	比率 (B:C)	ID50 (mg/mouse)		相乗効果 (a) / (b) (%)
		測定値 (a)	計算値 (b)	
BOREP		90.1		
キトサン		26.5		
本発明品	4:1	57.4	77.4	74
	3:1	46.7	74.2	63
	3:2	31.2	64.7	48
	2:3	31.2	51.9	60

[0039] In order to grasp and examine the data of a table 1 and a table 2 visually, ID50 measured value was plotted to drawing 1 and drawing 2 , respectively. The straight line in drawing which connected BOREP and independent ID50 of chitosan plots the calculated value (theoretical value) of an additive

effect continuously. It was admitted that ID50 measured value (plot described at the \*\*\*\*\* rectangular head) of this invention article was plotted at a zero side, and had the synergistic effect also in which rate of a compounding ratio rather than this straight line.

[0040] By blending chitosan with BOREP from this experiment, it became clear about the depressor effect over triglyceride concentration lifting and cholesterol concentration lifting to demonstrate the unexpectedly strong synergistic effect as compared with the effectiveness guessed when each component is only mixed.

[0041] Example 2: Depressor effect over serum lipid concentration lifting (experiment using a rabbit)

[0042] It was used at random, having divided into four groups (a control group, a BOREP administration group, a chitosan administration group, and this invention article (rate 3:2 of compounding ratio of BOREP and chitosan) administration group) 16 NZW male rabbits (7 weeks old, about 3-4kg) which carried out preliminary breeding and which were conditioned with the pellet (CR-1 and Japanese Clare, Inc.).

[0043] The control group bred cholesterol for two weeks with the feed added 1%. In said cholesterol 1% addition feed, other three groups bred each administration object for two weeks with the mixed feed added 5%, respectively. At the time of initiation of this breeding period for two weeks, at the time of one-week progress, it collected blood from auricular veins at the time of two-week progress (0.5-1ml), and blood serum triglyceride concentration and serum cholesterol concentration were measured with enzymatic process. Measurement was performed using the Wako Pure Chem "triglyceride E-test" and the "cholesterol E-test." These results are shown in a table 3 and a table 4. The effectiveness (inside a of a table) over the control group of each administration group and the effectiveness (inside b of a table) over this invention group were examined with significant difference assay (Fisher's PLSD law), and it judged that the difference in the case of level of significance  $P < 0.05$  is significant.

[0044]

[A table 3]

高コレステロール食で飼育したウサギの血清トリグリセリド濃度に  
及ぼすBOREP、キトサンおよび本発明品の効果

処置	トリグリセリド (mg/dl)					
	開始時	1週間	(a)	(b)	2週間	(a) (b)
対照	67±8	85±10	Vs		135±14	Vs
本発明品 (1)	64±8	75±8	Ns	Vs	82±9	** Vs
BOREP	64±6	78±5	Ns	Ns	108±6	* *
キトサン	66±7	83±4	Ns	Ns	115±4	Ns *

データ：平均値±標準誤差 (n=4)

(a) 対照群に対する有意差検定

(b) 本発明品群に対する有意差検定

Ns有意差なし、\* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$

(1) BOREP:キトサン=3:2

[0045]

[A table 4]



高コレステロール食で飼育したウサギの血清コレステロール濃度に  
及ぼすBOREP、キトサンおよび本発明品の効果

処置	コレステロール (mg/dl)					
	開始時	1週間	(a)	(b)	2週間	(a) (b)
対照	75±5	380±36	Vs		650±50	Vs
本発明品 (1)	73±6	216±31	**	Vs	336±25	** Vs
BOREP	80±5	338±29	Ns	*	557±51	** **
キトサン	77±7	286±22	*	Ns	480±38	** **

データ：平均値±標準誤差 (n=4)

(a) 対照群に対する有意差検定

(b) 本発明品群に対する有意差検定

Ns有意差なし、\*P<0.05 \*\*P<0.01

(1) BOREP:キトサン=3:2

[0046] As compared with the control group, both the blood serum triglyceride concentration and serum cholesterol concentration of the group which prescribed BOREP, chitosan, and this invention article for the patient fell. Although it was known that BOREP will control intentionally blood serum triglyceride concentration lifting by fat intake, that depressor effect is shown also not only to blood serum triglyceride concentration but to cholesterol concentration by repetitive intake became whether to be \*\*.

[0047] Furthermore, this invention article showed strong depressor effect about both a blood serum triglyceride and serum cholesterol concentration lifting compared with independent administration of BOREP which is a combination component, and chitosan so that clearly from the result after two weeks of breeding. From this result, it was shown that this invention article is useful as an after-a-meal hyperlipidemia (hypertriglyceridemia, hypercholesterolemia) inhibitor as compared with BOREP and chitosan independent administration.

[0048] Example 3: Depressor effect over serum lipid concentration lifting (Homo sapiens trial)

[0049] A blood serum triglyceride or cholesterol concentration targetted the adult volunteer (12 boys, 27-50 years old of age) of the level of a border area from normal. The trial was performed according to the meaning of Declaration of Helsinki, and the test subject signed the acceptance document of his volition, after being given [ sufficient ] about the trial. The trial was performed by the crossing method and the idle period during a trial was made into one week.

[0050] The outline of a test method is as follows. The test subject abstained from food from the previous night for 12 hours or more, and did the food intake of the omelet cooked by five hen's eggs and butter 50g at 9:00 in the next morning. After a meal, the BOREP administration group, the chitosan administration group, and this invention article (rate 3:2 of compounding ratio of BOREP and chitosan) administration group took in the tablet containing 1g of each component (it sets in this invention article administration group, and they are BOREP600mg and chitosan 400mg). The tablet which does not contain the above-mentioned component was taken in about the control group. The nutrition component of the omelet which carried out the food intake is shown in a table 5.

[0051]

[A table 5]

脂肪食の栄養成分

		オムレツ300g中
エネルギー		782.5Kcal
脂肪		68.5g
脂肪内訳	中性脂肪	55.7g
	コレステロール	1.4g
	その他	11.4g
タンパク質		31.8g
炭水化物		3.1g
灰分		3.5g

[0052] before a meal (0 hour) and after a meal -- blood collecting was performed from the venae brachiales in 1, 2, 3, 4, and 5 or 6 hours, the blood serum was separated, and triglyceride concentration and total cholesterol concentration were measured with enzymatic process. Measurement was performed using the Wako Pure Chem "triglyceride E-test" and the "cholesterol E-test." A change of blood serum triglyceride concentration with time is shown in drawing 3, and a change of serum cholesterol concentration with time is shown in drawing 5.

[0053] As shown in drawing 3 and drawing 5, by taking in fat diet, blood serum triglyceride concentration and serum cholesterol concentration rose, and lifting was controlled by prescribing BOREP, chitosan, and this invention article for the patient. \* in drawing is level of significance  $P < 0.05$ , \*\* is level of significance  $P < 0.01$ , and this invention article administration group means that a significant difference is shown also to any of a control group, a BOREP administration group, and a chitosan administration group. Administration of this invention article controlled intentionally blood serum triglyceride concentration lifting and serum cholesterol concentration lifting after a fat load as compared with BOREP and chitosan independent administration so that I might be understood from drawing 3 and drawing 5.

[0054] Drawing 4 and drawing 6 show AUC (area under the compound concentration time amount curve in a blood serum) of 0 - 6 hours about blood serum triglyceride concentration and serum cholesterol concentration, respectively. The depressor effect by this invention article administration was strong about both blood serum triglyceride augend and serum cholesterol augend as compared with the depressor effect by BOREP and chitosan independent administration so that clearly from these graphs.

[0055] Example 4: The presentation of a tablet [0056] One example of a tablet presentation of the lipid metabolism improvement agent by this invention is shown below.

[0057] BOREP 75mg, chitosan 50mg, corn starch 10mg, crystalline cellulose 20mg, lactose Optimum dose, silicon dioxide 2mg, sucrose fatty acid ester Let 5mg and the above be tablets (tablet weight 215mg).

[0058] As compared with the effectiveness at the time of carrying out single business of the two above-mentioned component, strong unexpected effectiveness (synergistic effect) was acquired by the lipid metabolism improvement agent of this invention which becomes combining BOREP especially effective in blood serum triglyceride concentration lifting control, and chitosan especially effective in serum cholesterol concentration lifting control to both blood serum triglyceride concentration lifting and serum cholesterol concentration lifting so that I might be understood from many above examples. It is possible to decrease substantially the dose in the case of using the above-mentioned component independently, consequently the lipid metabolism improvement agent of this invention demonstrates effectiveness to Homo sapiens with the impossible intake which is not, and is especially useful as prevention / improvement agents, such as hyperlipidemia and arteriosclerosis.

[Translation done.]

\* NOTICES \*

JPO and NCIPI are not responsible for any damages caused by the use of this translation.

- 1.This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.
- 2.\*\*\*\* shows the word which can not be translated.
- 3.In the drawings, any words are not translated.

---

DESCRIPTION OF DRAWINGS

---

[Brief Description of the Drawings]

[Drawing 1] The graph of the synergistic effect by BOREP about depressor effect and the combination of chitosan to blood serum triglyceride concentration lifting after a fat load.

[Drawing 2] The graph of the synergistic effect by BOREP about depressor effect and the combination of chitosan to serum cholesterol concentration lifting after a fat load.

[Drawing 3] The graph of an examination of the effectiveness of an invention exerted on the blood serum triglyceride concentration behind a fat load with time.

[Drawing 4] The graph of the effectiveness of an invention exerted on the blood serum triglyceride augend behind a fat load (zero to 6 h AUC).

[Drawing 5] The graph of an examination of the effectiveness of an invention exerted on the serum cholesterol concentration behind a fat load with time.

[Drawing 6] The graph of the effectiveness of an invention exerted on the serum cholesterol augend behind a fat load (zero to 6 h AUC).

---

[Translation done.]

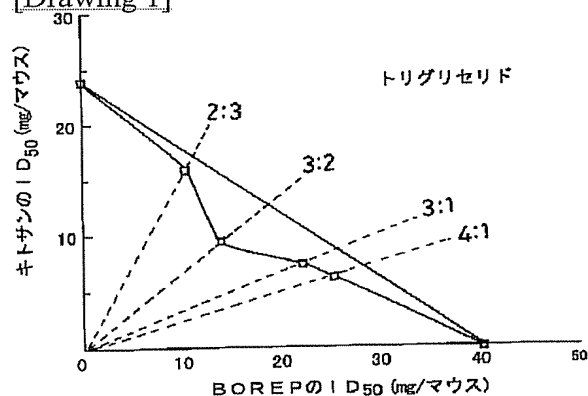
## \* NOTICES \*

JPO and NCIPI are not responsible for any damages caused by the use of this translation.

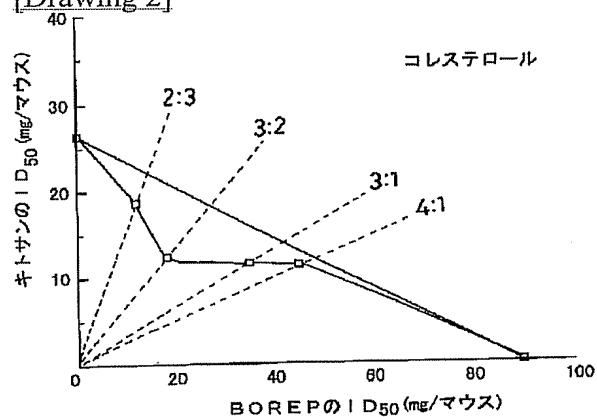
1. This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.
2. \*\*\*\* shows the word which can not be translated.
3. In the drawings, any words are not translated.

## DRAWINGS

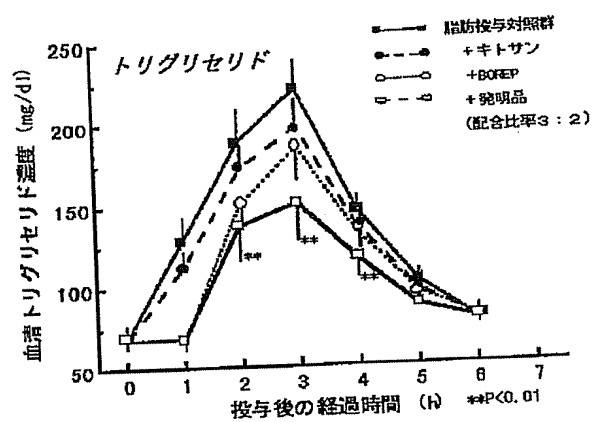
[Drawing 1]



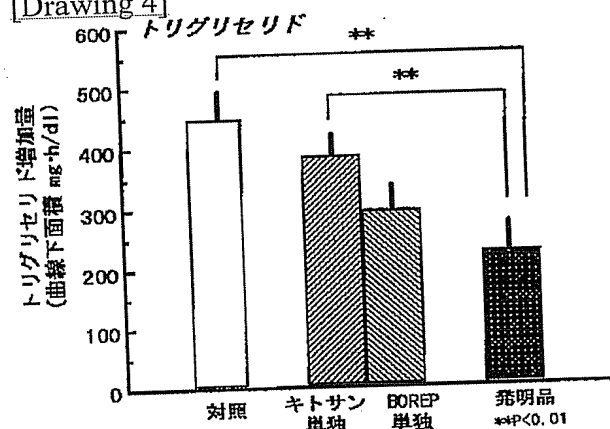
[Drawing 2]



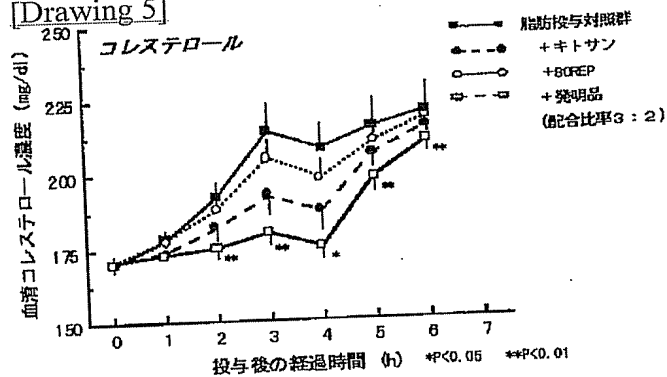
[Drawing 3]



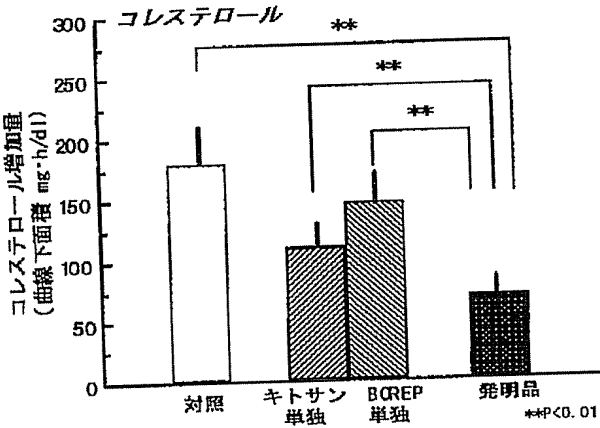
[Drawing 4]



[Drawing 5]



[Drawing 6]



[Translation done.]

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 特 許 公 報 (B 2)

(11) 特許番号

特許第3108675号

(P3108675)

(45) 発行日 平成12年11月13日 (2000. 11. 13)

(24) 登録日 平成12年 9 月 8 日 (2000. 9. 8)

(51) Int.Cl. <sup>7</sup>	識別記号	F I	
A 6 1 K 38/00		A 6 1 K 37/18	
A 2 3 K 1/16	3 0 3	A 2 3 K 1/16	3 0 3 D
			3 0 3 F
A 2 3 L 1/30		A 2 3 L 1/30	A
1/305		1/305	
請求項の数 8 (全 9 頁) 最終頁に続く			

(21) 出願番号	特願平10-66928	(73) 特許権者	592219307 阪急共栄物産株式会社 大阪府大阪市北区角田町 8 番 7 号 阪急ビル内
(22) 出願日	平成10年 3 月17日 (1998. 3. 17)	(72) 発明者	香川 恭一 大阪府池田市古江町180番地 阪急共栄物産株式会社 薬理研究所内
(65) 公開番号	特開平11-263733	(72) 発明者	松高 寿子 大阪府池田市古江町180番地 阪急共栄物産株式会社 薬理研究所内
(43) 公開日	平成11年 9 月28日 (1999. 9. 28)	(72) 発明者	伴 康近 大阪府池田市古江町180番地 阪急共栄物産株式会社 薬理研究所内
審査請求日	平成10年11月19日 (1998. 11. 19)	(74) 代理人	100107308 弁理士 北村 修一郎
		審査官	瀬下 浩一
		最終頁に続く	

(54) 【発明の名称】 脂質代謝改善剤

1

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】 タンパク質又はタンパク質含有物をプロテアーゼ又は酸で加水分解して製造され、平均ペプチド鎖長が3～4である脂質代謝改善作用を有するタンパク質水解物と、キトサンとを有効成分として含有することを特徴とする、脂質代謝改善剤。

【請求項 2】 前記タンパク質水解物と、キトサンとの配合重量比が4：1～2：3である請求項 1 記載の脂質代謝改善剤。

【請求項 3】 前記タンパク質水解物と、キトサンとの配合重量比が3：2である請求項 1 記載の脂質代謝改善剤。

【請求項 4】 食餌脂質吸収阻害剤である請求項 1～3 のいずれか 1 項に記載の脂質代謝改善剤。

【請求項 5】 食後高脂血症改善剤である請求項 1～3

2

のいずれか 1 項に記載の脂質代謝改善剤。

【請求項 6】 高脂血症、動脈硬化症、高血圧症、肥満症の、予防・改善剤である請求項 1～3 のいずれか 1 項に記載の脂質代謝改善剤。

【請求項 7】 請求項 1～3 のいずれか 1 項に記載の脂質代謝改善剤を含有する脂質代謝改善用食品。

【請求項 8】 請求項 1～3 のいずれか 1 項に記載の脂質代謝改善剤を含有する脂質代謝改善用動物用飼料。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】 本発明は食餌脂質吸収阻害、食後高脂血症改善作用を有する、高脂血症、動脈硬化症、肥満などの予防・改善効果を期待できる脂質代謝改善剤に関する。

【0002】



【従来の技術】近年、食生活の向上ないし洋風化に伴って、脂質の摂取量が増加している。国民栄養調査によると、昭和63年以降は摂取エネルギーに占める脂質エネルギー比率が適正比率の上限(25%)を超えており、増加の一途を辿っている。なかでも若い世代を中心に、動物性脂肪の摂取比率の増加が顕著である。このような恒常的な脂肪の過剰摂取は、肥満や血清脂質の上昇を引き起こし、それにとまうさまざまな合併症(例えば、循環器系疾患、特に、冠・脳血管疾患、および、乳ガン、大腸ガンなどのある種のガン等の成人病)の発症の危険率が高まるなど、国民の健康保持、増進のうえから社会問題となっている。

【0003】とりわけ、循環器系疾患発症のリスク要因として従来から血中コレステロール濃度の上昇が挙げられており、さらに最近ではコレステロールとは独立した要因として、血中トリグリセリド濃度も問題視されている(Austin, M. A. Am. J. Epidemiol. 129, 249-259(1989), Carlson L. A. et al. Acta. Med. Scand. 206, 351-360(1979), Carlson L. A. et al. Acta. Med. Scand. 218, 207-211(1985), Castelli, W. P. Am. Heart. J. 12, 432-437(1986))。

【0004】脂肪や糖質を摂取すると一過性に食後高脂血症が起こるが、過剰に摂取すると、食後高脂血症状態が長く続く。高脂血症とは、血清コレステロール濃度の上昇、および血清トリグリセリド濃度の上昇を含むが、高コレステロール血症は動脈硬化の危険因子であることがよく知られている。また、恒常的に脂肪を過剰に摂取する状況では、血中トリグリセリド濃度の持続的な上昇をきたし、血中トリグリセリド濃度の上昇は、高血圧症や、虚血性心疾患などの動脈硬化性疾患の発症につながる危険性が高いことが指摘されている(中村 治雄、医学のあゆみ 157, 771-775(1991)、高トリグリセリド血症ハンドブック、石川 俊次、薬の知識39, 3-8(1988))。

【0005】また、脂質の過剰摂取によるエネルギー過剰は、肥満の原因となり、肥満は循環不全、動脈硬化、糖尿病などの成人病の発症率を上昇させる。

【0006】このため、体脂肪除去あるいは食餌脂質の低下を目的としたアプローチが精力的に行われており、以下のような方法、薬物が提案されている。まず、脂肪摂取量の抑制として、食事療法、脂肪代替品、食欲抑制剤がある。しかし、食事療法は過度な制限食であることが多く、脂質に富んだ美味な食品が豊富な現代社会において、長期的に実行するには非常な困難を伴う。また、脂肪代替品として、様々な商品が開発されているが、自然なおいしさ、本物の旨さを追求するグルメの時代に代替品の味で満足することも容易ではない。更に、最近、脂肪代替品のあるものでは重篤な副作用が発現することが注目されている。また、食欲抑制剤として、マジンドールやフェンフルラミン等が知られているが、医師のコ

ントロール下でしか投与できず、その副作用も報告されている(Hadler A. J. J. Clin. Pharm. 12, 453(1972), Stunkard D. A. et al. Lancet 1, 503(1973))。

【0007】これらのような実行困難な方法に代わるアプローチとして、脂肪などの摂取には制限を加えず、消化管での脂質の吸収を抑える薬剤(ニコモール、ネオマイシン等)や、吸収した栄養物が脂肪として蓄積する事を阻止するための薬剤(デヒドロエピアンドロステロン等)も開発されているが、これらの医薬品においては副作用の発現が不可避である。

【0008】その他にも、血中リポタンパク質リパーゼ活性を高めて血中脂質の代謝を促す医薬品であるデキストラン硫酸、脂質代謝改善薬であるクロフィブラートやブラバスタチン等が現在用いられているが、これらの医薬品の投与による副作用も懸念されている。

【0009】高コレステロール血症の治療においては、コレステロールの生合成を抑えるような薬剤が知られているが、これらの薬物の多くは副作用を伴う。

【0010】そこで、上記の医薬品に対して、副作用の発現が少ないと考えられる食品素材の開発が期待される。食品素材では、種々の食物繊維が消化管内でのコレステロールあるいは胆汁酸の吸収に干渉し、血中コレステロール濃度を低下させる事が知られている。有効な食物繊維としては、ペクチン、グアーガム、コンニャクマンナン、海藻多糖類、キトサン等が挙げられる。

【0011】近年、キトサンが、他の食物繊維と比較して、脂質消化吸収阻害作用において格別優れていることが動物実験によって明らかとなった。例えば、ラットの飼料中に5%程度キトサンを添加して飼育した際にはみかけの脂肪吸収率の抑制はおおよそ50%にも及ぶと報告されている(金内 理、化学と生物 34, 553-557(1996))。しかしながら、この摂取量を脂肪摂取量あたりでヒトに換算すると1日量として15gにもなり、その多量摂取の結果、強い凝集力によって便秘になるなど、副作用が現れる可能性が指摘されている。多くの場合、キトサン1日最大摂取量は2g以下に設定されている。

【0012】さらに、キトサンは消化管における脂肪の吸収を抑制すると同時に、脂溶性ビタミンの吸収に悪影響を及ぼす可能性がある。実際、キトサン摂取によって体内のビタミンA、E血中濃度が減少するという報告がなされている(金内 理、前出)。ビタミンEには、動脈硬化を予防する効果があることから、このようなビタミン吸収阻害作用はキトサンに固有の問題点であると考えられる。

【0013】キトサンのコレステロール低下作用は、動物のみならず、ヒトにおける試験成績が数多く報告されており、公知のものである(Sugano, M. et al. Nutr. Rep. Int., 18, 531-537(1978)、辻 啓介、食品工業 36, 50-56(1993)、平野 茂博、Food & Food Ingredients Journal of Japan 159, 65-71(1994)、次田 隆志ら、

月刊フードケミカル45-50(1995)、金内 理、前出)。  
しかし、キトサンはヒトに対しては有意に血中コレステロール濃度を減少させるが、血中トリグリセリド値に関する有意な抑制効果はないという報告もなされている(辻 啓介、前出、次田ら、前出)。

【0014】上記のように、キトサンは消化管における吸収阻害作用に基づくと考えられる血清コレステロール濃度上昇抑制物質として優れた食品素材であるが、多量摂取による副作用等の問題点がある。

【0015】他方、以下BOREPと称する、「タンパク質又はタンパク質含有物をプロテアーゼ又は酸で加水分解して製造され、平均ペプチド鎖長が3~4である脂質代謝改善作用を有するタンパク質水解物」は、脂肪摂取による血清トリグリセリド濃度の上昇を顕著に抑制する作用を有することが明らかにされている(特公平5-87052(WO89/06970,US08/608,045))。

【0016】BOREPの作用としては、腓リパーゼの活性を抑えることによる消化管における脂質の吸収阻害、リポタンパク質リパーゼの活性化によるキロミクロン中のトリグリセリドの代謝促進、肝臓での脂肪酸のβ酸化促進、繊維芽細胞から脂肪前駆細胞、脂肪前駆細胞から脂肪細胞への変異の抑制、等が確認されており、消化管での吸収阻害だけでなく、いったん消化吸收された脂質の代謝を促進するという複数の機構により、血中トリグリセリド濃度を低下させると考えられる。

【0017】また、BOREPには、前述のキトサンにみられる副作用(過剰摂取による副作用、脂溶性ビタミン吸収阻害)はみられない。しかし、BOREPはキトサンほどの顕著な血中コレステロール上昇抑制作用を示さないという問題点がある。

【0018】

【発明が解決しようとする課題】本発明は、脂質の消化吸収を阻害するとともに、いったん吸収された脂質の代謝を改善することによって、上記のような問題点を解決し、恒常的な脂肪の過剰摂取と因果関係の強い、肥満並びに高脂血症や動脈硬化症などの生活習慣病の予防効果および改善効果を有する脂質代謝改善剤を提供することを目的とする。

【0019】

【課題を解決するための手段】本発明者らは、上記したような事情に鑑み、タンパク質又はタンパク質含有物をプロテアーゼ又は酸で加水分解して製造され、平均ペプチド鎖長が3~4である脂質代謝改善作用を有するタンパク質水解物(BOREPと称する)と、キトサンとを実際に初めて混合して用いることにより、その配合剤に、血中トリグリセリド濃度上昇抑制作用および血中コレステロール濃度上昇抑制作用において、予想外にも相乗効果を見出し、さらに、投与量などにおいて、それぞれの成分の単一投与時にみられる問題点を補い、各成分の単一投与時には見られなかった格別顕著な効果が発揮

されることを見出し、これらに基づいて本発明を完成した。特に当該混合物を用いることによって、キトサンの摂取量を大幅に減じることができる。

【0020】即ち、本発明による脂質代謝改善剤は、BOREPとキトサンとの混合物を有効成分として含有することを特徴とする。

【0021】本発明で使用するBOREPは、例えば特公平5-87052(国際公開番号WO89/06970)および国際公開番号WO97/00890などに開示され、これらの公報の開示に記載の方法又はそれに準ずる方法に従って製造することができる。また、本発明で使用するキトサンはそれ自身公知であり、例えば、キチン・キトサン研究会編「最後のバイオマス キチン、キトサン 1988年刊」に詳細に記載されている。本発明でも、市販のものから適当なものを選んで使用することができる。

【0022】BOREPとキトサンの配合重量比は、自由に設定できるが、後述の実施例に示すように、好ましくは4:1~2:3であり、さらに好ましくは3:2程度である。この配合重量比において高い相乗効果が得られる。

【0023】本発明による脂質代謝改善剤は、動物(例、ヒト、ウサギ、マウス等)に対して食餌脂質吸収阻害作用、及び、食後高脂血症改善作用に基づくと考えられる脂質代謝改善作用を示し、高脂血症(高トリグリセリド血症、高コレステロール血症)、動脈硬化症(アテローム性動脈硬化症、脂動脈硬化症、冠動脈硬化症、末梢動脈硬化症等)高血圧症、肥満症の、予防・改善剤として有用である。本発明による前記改善剤は、肥満症、高脂血症、等の高血圧症を合併症とする疾患の予防または改善に顕著な効果を奏し、とりわけ、高血圧症を合併症とする動脈硬化症の予防・改善に好ましく用いられる。

【0024】本発明による脂質代謝改善剤は、それ自体の標品(BOREP原体とキトサン原体の混合物)あるいは適宜の担体、賦形剤、希釈剤等と混合し、カプセル剤、錠剤、粉末、顆粒等の固形組成物として、経口的に安全に投与することができる。これらの組成物は製剤化工程において一般に用いる公知の方法に従って製剤化することができる。

【0025】個々の成分の1日投与量は、例えば約450~900mgの範囲のBOREPと、例えば約300~600mgの範囲のキトサンを有効に組み合わせることが出来る。当然ながら、これらの用量範囲は1日投与量を分割するために必要な単位ベースで調節できる。好ましくは、以下の実施例に記載するような錠剤を1日6~12錠、最も好ましくは1日8錠(BOREP600mg、キトサン400mg)投与される。

【0026】本発明による脂質代謝改善剤は以上のような製剤として提供されるばかりでなく、それを飲食品および動物用飼料に含有させた形態として提供される。こ

これらの飲食品および動物用飼料は、脂質代謝改善用の用途に用いられる。食品としては、健康食品、特定保健用食品、一般の食品（チョコレート、ケーキ、ハム、ミートソース、シチュー、ミルク、プリン、カレー、ハヤシ等）が挙げられる。これらの食品に本発明による脂質代謝改善剤を0.1～50%の割合で混合し、前記改善剤が1日あたり750mg～1200mgとなる範囲で投与するのが好ましい。動物用飼料においては、前記改善剤を0.05%～5%の範囲で含有させることが好ましい。本発明による脂質代謝改善剤を配合した動物用飼料は、動物の高脂肪化を防ぐことにより、畜産、水産分野における動物の肉質の改善に有用である。

【0027】

【発明の実施の形態】本発明の一成分であるBOREPの製法は特公 平5-87052に開示されているが、その一例は次のようである。動物性、植物性、微生物起源などの任意のタンパク質又はタンパク質含有物を固形分として水に5～30重量%となるように分散させ、酸またはアルカリによってプロテアーゼの至適pHに調整し、プロテアーゼを一度にまたは逐次的に添加して、20～70℃の温度で3～48時間、プロテアーゼを反応させて加水分解する。

【0028】次に、得られたタンパク質分解物を噴霧乾燥して、または当該タンパク質分解物にカルボキシメチルセルロースあるいはデキストリンといった増量剤を適量加えて、乾燥、固化することにより、脂質代謝改善効果を有するタンパク質水解物であるBOREPの固形物を得ることができる。

【0029】BOREPの原材料としては上記のように任意のタンパク質を用いることができるが、国際公開番号W097/00890に記載のようにヘモグロビンやミオグロビン等のグロビタンパク質が、血中トリグリセリド濃度の上昇を抑制するという効果を強く奏しうるという点において特に好ましい。

【0030】なお、そのようなグロビタンパク質の供給源である動物の種類は特に限定されず、ウシ、ブタ、ヒツジ、ヒト、ウマ等の血液を広く用いることが出来る。

【0031】また、用いる加水分解酵素としては、例えば酸性プロテアーゼ、中性プロテアーゼ又はアルカリ性プロテアーゼの一種もしくは二種以上を用いることが出来る。

【0032】このような、加水分解により得られたBO

REPの有効成分としては、数種のオリゴペプチドが確認されており、例えば、国際出願番号W097/00890では、BOREPの構成成分の中でも、特に、Leu-Val-Val-Tyr-Pro-Trp-Thr, Val-Thr-Leu, Val-Tyr-Proの3種のペプチドが、またW097/35875では、Val-Val-Tyr-Proが、いずれも血中トリグリセリド濃度上昇抑制作用において優れていることが確認されている。

【0033】本発明のもう一つの成分であるキトサンは、前述したように公知の物質であり、例えば、キチン・キトサン研究会編「最後のバイオマス キチン、キトサン1988年刊」に詳細に記載されている。本発明でも、市販のものから適当なものを選んで使用することができる。

【0034】

【実施例】実施例1：血清脂質濃度上昇に対する抑制効果（マウスを用いた実験）

【0035】固形飼料（CE-2、日本クレア株式会社）で予備飼育して順化したICR雄性マウス（6～7週齢、33g程度）を無作為に6群（BOREP投与群、キトサン投与群、および以下、本発明品と称するBOREPとキトサンの混合物（BOREPとキトサンの配合比率 4：1, 3：1, 3：2, 2：3）投与群）に分けて使用した。一夜絶食後、コレステロール5%添加オリーブ油250mgと、上記の投与物をそれぞれの群に経口投与し、投与2時間後に、血清トリグリセリド濃度および血清コレステロール濃度を酵素法により測定した。測定は和光純薬製の「トリグリセリドE-テスト」、「コレステロールE-テスト」を用い、キットに指示されているプロトコルに従って行った。

【0036】測定濃度値から、各投与物における血清脂質濃度上昇抑制作用の50%抑制率（ID50 mg/mouse）を求めた結果（表中測定値）を以下の表1、表2に示す。表中の比率（B：C）は本発明品におけるBOREP：キトサンの配合比率を示す。本発明品のID50（表中(b)）はBOREP、キトサン単独のID50測定値に、それぞれの配合比率をかけたものを加えて得られる相加効果を想定した理論値である。相乗効果は、本発明品の計算値に対する測定値の百分率で示す。この値が小さい程、二成分の組み合わせによる相乗効果が大きいことを意味する。

【0037】

【表1】

脂肪負荷後の血清トリグリセリド上昇抑制に対する  
BOREPとキトサンの組み合わせ効果

	比率 (B:C)	ID50 (mg/mouse)		相乗効果 (a)/(b) (%)
		測定値 (a)	計算値 (b)	
BOREP		40.3		
キトサン		23.8		
本発明品	4:1	31.8	37.0	86
	3:1	30.0	36.2	83
	3:2	23.7	33.7	70
	2:3	26.6	30.4	68

【0038】

\* \* 【表2】

脂肪負荷後の血清コレステロール上昇抑制に対する  
BOREPとキトサンの組み合わせ効果

	比率 (B:C)	ID50 (mg/mouse)		相乗効果 (a)/(b) (%)
		測定値 (a)	計算値 (b)	
BOREP		80.1		
キトサン		26.5		
本発明品	4:1	57.4	77.4	74
	3:1	46.7	74.2	63
	3:2	31.2	64.7	48
	2:3	31.2	51.9	60

【0039】表1、表2のデータを視覚的に把握、検討するために、ID50測定値を図1、図2にそれぞれプロットした。BOREPおよびキトサンの単独のID50を結んだ図中の直線は、相加効果の計算値（理論値）を連続的にプロットしたものである。本発明品のID50測定値（図中開四角で記したプロット）はこの直線よりも原点側に

【0040】この実験からBOREPとキトサンを配合することによって、トリグリセリド濃度上昇およびコレステロール濃度上昇に対する抑制効果に関して、各成分を単に混合した際に推測される効果に比較して、予想外に強い相乗効果を発揮することが明らかとなった。

【0041】実施例2：血清脂質濃度上昇に対する抑制効果（ウサギを用いた実験）

【0042】固形飼料（CR-1，日本クレア株式会社）で予備飼育して順化したNZW雄性ウサギ（7週齢、3～4kg程度）16匹を無作為に4群（対照群、

BOREP投与群、キトサン投与群、および本発明品（BOREPとキトサンの配合比率3：2）投与群）に分けて使用した。

【0043】対照群はコレステロールを1%添加した飼料で2週間飼育した。他の3群は前記コレステロール1%添加飼料に、各投与物をそれぞれ5%添加した配合飼料で2週間飼育した。この2週間の飼育期間の開始時、1週間経過時、2週間経過時に耳介静脈から採血（0.5～1ml）し、血清トリグリセリド濃度および血清コレステロール濃度を酵素法で測定した。測定は和光純薬製の「トリグリセリドE-テスト」、「コレステロールE-テスト」を用いて行った。これらの結果を表3および表4に示す。各投与群の対照群に対する効果（表中a）、および本発明群に対する効果（表中b）を、有意差検定法（Fisher's PLSD法）によって検討し、危険率P<0.05の場合の差を有意であると判定した。

【0044】

【表3】

高コレステロール食で飼育したウサギの血清トリグリセリド濃度に及ぼすBOREP、キトサンおよび本発明品の効果

処置	トリグリセリド (mg/dl)					
	開始時	1週間	(a)	(b)	2週間	(a) (b)
対照	67±8	85±10	Vs		135±14	Vs
本発明品 (1)	64±8	75±8	Ns	Vs	82±9	** Vs
BOREP	64±6	78±5	Ns	Ns	108±6	* *
キトサン	66±7	83±4	Ns	Ns	115±4	Ns *

データ：平均値±標準誤差 (n=4)

(a) 対照群に対する有意差検定

(b) 本発明品群に対する有意差検定

Ns有意差なし、\*P<0.05 \*\*P<0.01

(1)BOREP:キトサン=3:2

【0045】

\* \* [表4]

高コレステロール食で飼育したウサギの血清コレステロール濃度に及ぼすBOREP、キトサンおよび本発明品の効果

処置	コレステロール (mg/dl)					
	開始時	1週間	(a)	(b)	2週間	(a) (b)
対照	75±5	380±36	Vs		650±50	Vs
本発明品 (1)	73±6	216±31	**	Vs	336±25	** Vs
BOREP	80±5	338±29	Ns	*	557±51	** **
キトサン	77±7	286±22	*	Ns	480±38	** **

データ：平均値±標準誤差 (n=4)

(a) 対照群に対する有意差検定

(b) 本発明品群に対する有意差検定

Ns有意差なし、\*P<0.05 \*\*P<0.01

(1)BOREP:キトサン=3:2

【0046】対照群と比較して、BOREP、キトサンおよび本発明品を投与した群の血清トリグリセリド濃度および血清コレステロール濃度はともに低下した。BOREPは、脂肪摂取による血清トリグリセリド濃度上昇を有意に抑制することが知られていたが、反復摂取によって血清トリグリセリド濃度だけでなくコレステロール濃度に対しても抑制効果を示すことが明かとなった。

【0047】さらに、飼育2週間後の結果から明らかなように、本発明品は、血清トリグリセリドおよび血清コレステロール濃度上昇の両方について、配合成分であるBOREPおよびキトサンの単独投与に比べて強い抑制効果を示した。この結果から本発明品が、BOREP、キトサン単独投与と比較して、食後高脂血症（高トリグリセリド血症、高コレステロール血症）抑制剤として有用であることが示された。

【0048】実施例3：血清脂質濃度上昇に対する抑制効果（ヒト試験）

【0049】血清トリグリセリドあるいはコレステロール濃度が正常から境界領域のレベルの成人ボランティア（男子12例、年齢27～50歳）を対象とした。試験はヘルシンキ宣言の趣旨に従って行い、被験者は試験に関する十分な説明を受けたうえで、自らの意志で同意書に署名した。試験は交差法で行い、試験間の休止期間は

1週間とした。

【0050】試験方法の概要は以下の通りである。被験者は前夜から12時間以上絶食し、翌朝9時に鶏卵5個とバター50gで調理したオムレツを摂取した。食後、BOREP投与群、キトサン投与群、本発明品（BOREPとキトサンの配合比率3：2）投与群はそれぞれの成分を1g含有する錠剤を摂取した（本発明品投与群においてはBOREP600mgおよびキトサン400mg）。対照群については上記成分を含有しない錠剤を摂取した。摂取したオムレツの栄養成分を表5に示す。

【0051】

【表5】

## 脂肪食の栄養成分

		オムレツ300g中
エネルギー		782.5Kcal
脂肪		69.5g
脂肪内訳	中性脂肪	55.7g
	コレステロール	1.4g
	その他	11.4g
タンパク質		31.8g
炭水化物		3.1g
灰分		3.5g

【0052】食事前(0時間)、食後1, 2, 3, 4, 5, 6時間に上腕静脈から採血を行い、血清を分離してトリグリセリド濃度、総コレステロール濃度を酵素法で測定した。測定は和光純薬製の「トリグリセリドE-テスト」、「コレステロールE-テスト」を用いて行った。血清トリグリセリド濃度の経時変化を図3に、血清コレステロール濃度の経時変化を図5に示す。

【0053】図3および図5に示すように、脂肪食を摂取することによって血清トリグリセリド濃度および血清コレステロール濃度は上昇し、BOREP、キトサンおよび本発明品を投与することによって上昇が抑制された。図中の\*は危険率 $P < 0.05$ で、\*\*は危険率 $P < 0.01$ で、本発明品投与群が、対照群、BOREP投与群、キトサン投与群のいずれに対しても有意差を示すことを表す。図3、図5から理解されるように、本発明品の投与は、BOREP、キトサン単独投与に比較して、脂肪負荷後の血清トリグリセリド濃度上昇、および血清コレステロール濃度上昇を有意に抑制した。

【0054】図4および図6は、それぞれ血清トリグリセリド濃度、血清コレステロール濃度に関する、0～6時間のAUC(血清中化合物濃度時間曲線下の面積)を示す。これらのグラフから明らかなように、血清トリグリセリド増加量、血清コレステロール増加量の両方について、本発明品投与による抑制効果は、BOREP、キトサン単独投与による抑制効果と比較して強いものであ

かった。

【0055】実施例4：錠剤の組成

【0056】本発明による脂質代謝改善剤の錠剤組成の1例を以下に示す。

【0057】BOREP 75mg、キトサン 50mg、コーンスターチ 10mg、結晶セルロース 20mg、乳糖 適量、二酸化ケイ素 2mg、ショ糖脂肪酸エステル 5mg、以上を錠剤とする(錠剤重量 215mg)。

10 【0058】以上の諸例から理解されるように、血清トリグリセリド濃度上昇抑制に特に有効なBOREPと、血清コレステロール濃度上昇抑制に特に有効なキトサンとを組み合わせる本発明の脂質代謝改善剤により、血清トリグリセリド濃度上昇、血清コレステロール濃度上昇の両方に対して、上記2成分を単用した際の効果に比較して、予想外の強い効果(相乗効果)が得られた。本発明の脂質代謝改善剤は、上記成分を単独で使用する場合は投与量を大幅に減少させることが可能であり、その結果、ヒトに対して無理のない摂取量で効果を発揮し、特に高脂血症、動脈硬化症等の予防・改善剤として有用である。

【図面の簡単な説明】

【図1】 脂肪負荷後の血清トリグリセリド濃度上昇に対する抑制効果についてのBOREPとキトサンの配合による相乗効果のグラフ。

【図2】 脂肪負荷後の血清コレステロール濃度上昇に対する抑制効果についてのBOREPとキトサンの配合による相乗効果のグラフ。

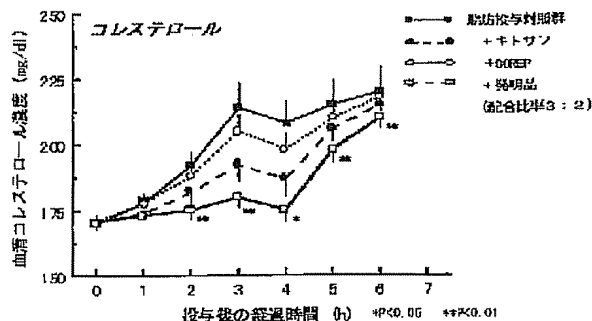
30 【図3】 脂肪負荷後の血清トリグリセリド濃度に及ぼす発明品の効果の経時的検討のグラフ。

【図4】 脂肪負荷後の血清トリグリセリド増加量(AUC 0-6h)に及ぼす発明品の効果のグラフ。

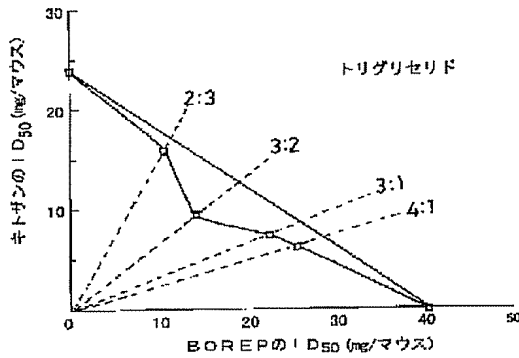
【図5】 脂肪負荷後の血清コレステロール濃度に及ぼす発明品の効果の経時的検討のグラフ。

【図6】 脂肪負荷後の血清コレステロール増加量(AUC 0-6h)に及ぼす発明品の効果のグラフ。

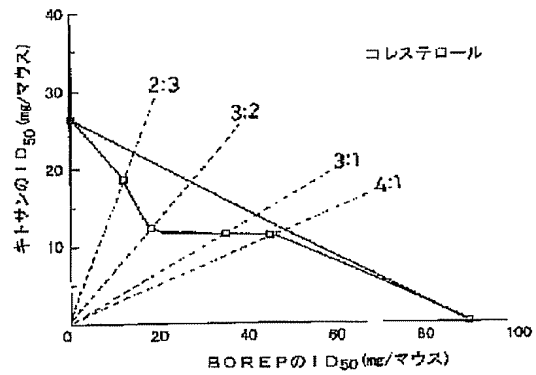
【図5】



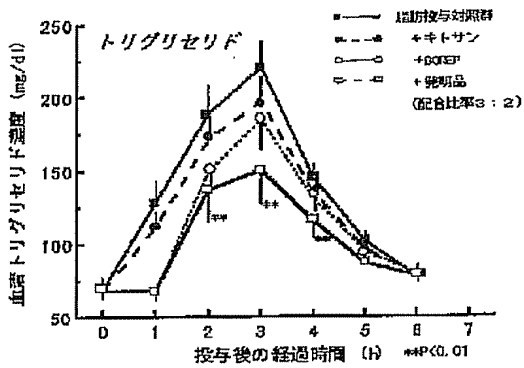
【図1】



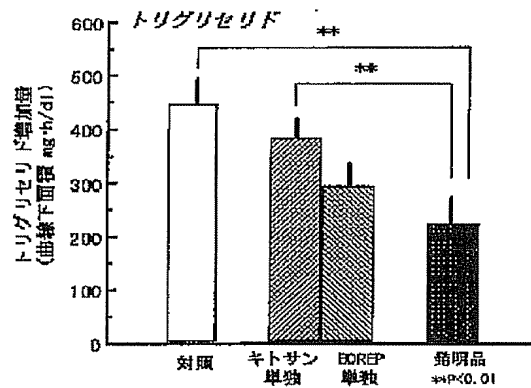
【図2】



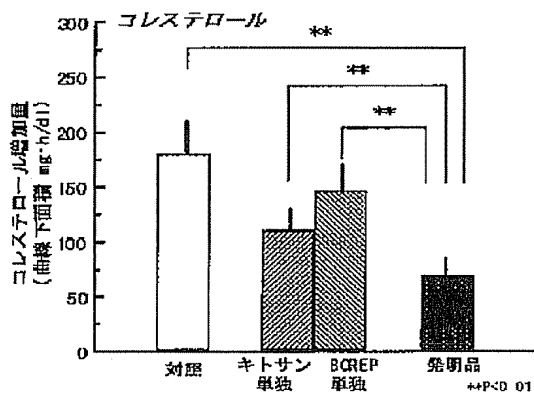
【図3】



【図4】



【図6】



フロントページの続き

(51)Int.Cl.

A61K 31/722  
A61P 3/06

識別記号

F I

A61K 31/722  
A61P 3/06

(72)発明者 福浜 千津子  
 大阪府池田市古江町180番地 阪急共栄  
 物産株式会社 薬理研究所内  
 (72)発明者 藤野 博昭  
 大阪府池田市古江町180番地 阪急共栄  
 物産株式会社 薬理研究所内

(56)参考文献 特開 平7-194316 (J P, A)  
 国際公開89/6970 (W O, A 1)  
 国際公開97/890 (W O, A 1)  
 NUTRITION REPORTS  
 INTERNATIONAL, 1978,  
 V o l. 18, N o. 9, p p. 531-537  
 月刊フードケミカル、1995 2、第45  
 -50ページ  
 食品工業、1993、第36巻、第50-56ペ  
 ージ  
 FOODS AND FOOD IN  
 GREDIENTS JOURNAL  
 OF JAPAN, 1994, N o. 159,  
 p p. 65-71

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A61K 38/01  
 A23K 1/16  
 A23L 1/30  
 A23L 1/305  
 A61K 31/722  
 A61P J/06  
 C A ( S T N )